

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭63-317758

⑪ Int.Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和63年(1988)12月26日

G 01 N 27/30

J-7363-2G

27/28

G-7363-2G

27/46

M-7363-2G

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑭ 発明の名称 バイオセンサの製造法

⑮ 特 願 昭62-153682

⑯ 出 願 昭62(1987)6月19日

⑰ 発 明 者 南 海 史 朗 大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器産業株式会社内  
 ⑰ 発 明 者 河 栗 真 理 子 大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器産業株式会社内  
 ⑰ 発 明 者 飯 島 孝 志 大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器産業株式会社内  
 ⑰ 出 願 人 松下電器産業株式会社 大阪府門真市大字門真1006番地  
 ⑰ 代 理 人 弁理士 中尾 敏男 外1名

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

バイオセンサの製造法

## 2. 特許請求の範囲

(1) 絶縁性の基板上に、カーボンペーストの印刷または塗布により少くとも測定極と対極からなる電極系を設け、ついでこの電極の表面を研磨し、80～170℃の温度で1～8時間熱処理した後に、酸化還元酵素および電子受容体を担持した多孔体で前記電極系を覆い、この多孔体を前記電極系および絶縁性の基板と一体化することを特徴とするバイオセンサの製造法。

(2) 熱処理が70～150℃の温度における4時間の加熱である特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサの製造法。

## 3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、種々の微量の生体試料中の特定成分について、試料液を希釈することなく迅速かつ簡易に定量することのできるバイオセンサの製造法

に関する。

従来の技術

従来、血液などの生体試料中の特定成分について、試料液の希釈や攪拌などの操作を行うことなく高精度に定量する方式としては、第5図に示す様なバイオセンサが提案されている(例えば、特開昭59-196852号公報)。このバイオセンサは、絶縁基板9にリード12, 13をそれぞれ有する白金などからなる測定極10および対極11を埋設し、これらの電極系の露出部分を酸化還元酵素および電子受容体を担持した多孔体14で覆ったものである。試料液を多孔体上へ滴下すると、試料液に多孔体中の酸化還元酵素と電子受容体が溶解し、試料液中の基質との間で酵素反応が進行し電子受容体が還元される。酵素反応終了後、この還元された電子受容体を電気化学的に酸化し、このとき得られる酸化電流値から試料液中の基質濃度を求める。

発明が解決しようとする問題点

この様な従来の構成では、多孔体については、

測定毎に取り替えることにより簡易に測定に供することができるが、電極系については洗浄等の操作が必要である。一方電極系をも含めて測定毎の使い棄てが可能となれば、測定操作上、極めて簡易になるものの、白金等の電極材料や構成等の面から、非常に高価なものにならざるを得ない。

本発明はこれらの点について種々検討の結果、電極系と多孔体を一体化することにより、生体試料中の特定成分を極めて容易に迅速かつ高精度に定量することができ、かつ保存性に優れた安価なディスプレイタイプのバイオセンサの製造法を提供するものである。

#### 問題点を解決するための手段

本発明は上記問題点を解決するため、絶縁性の基板上に、カーボンペーストの印刷または塗布により少くとも測定極と対極からなる電極系を設け、ついでこの電極の表面を研摩し、 $80\sim 170^{\circ}\text{C}$ の温度で1～8時間熱処理を施した後に、酸化還元酵素および電子受容体を担持した多孔体で前記電極系を覆い、この多孔体を前記電極系および絶

$3'$ 、 $4'$ の各部分を研摩後、空気中で $100^{\circ}\text{C}$ にて4時間熱処理を施した。

この後、穴を開けたポリエステル等の合成樹脂製の保持枠を絶縁層5に接着し、前記電極系 $2'$ 、 $3'$ 、 $4'$ を覆う様に酵素および電子受容体を担持した多孔体7を穴の中に保持する。さらにこの多孔体7の外径より小さい径の開孔部を有する樹脂製カバー8を接着し、全体を一体化する。この一体化されたバイオセンサについて、測定極3に沿った断面図を第2図に示す。ここで用いた多孔体は、ナイロン不織布を基材とし、酸化還元酵素としてのグルコースオキシダーゼ $200\text{mg}$ と、電子受容体としてのフェリシアン化カリウム $400\text{mg}$ を、濃度 $0.25\text{wt}\%$ の界面活性剤(ポリエチレングリコールアルキルフェニルエーテル)を含む $\text{pH}5.6$ のリン酸緩衝液 $1\text{ml}$ に溶解した液を前記基材に含浸後、濃度 $0.25\text{wt}\%$ の界面活性剤を含むエタノール中に浸漬して結晶化し、次に減圧乾燥して作製したものである。

上記の様に構成したグルコースセンサの多孔体

緑性基板と一体化するものである。

#### 作用

本発明によれば、極めて容易に基質濃度を測定することができ、かつ保存性に優れたディスプレイタイプのバイオセンサを構成することができる。

#### 実施例

以下、本発明のバイオセンサの一例として、グルコースセンサについて説明する。第1図は、グルコースセンサの一実施例について示したもので、構成部分の分解図である。ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性の基板1に、スクリーン印刷により樹脂バインダーを含む導電性カーボンペーストを平行な帯状に印刷し、加熱乾燥することにより、対極2、測定極3、参照極4からなる電極系を形成する。次に、電極系を部分的に覆い、各々の電極の電気化学的に作用する部分となる $2'$ 、 $3'$ 、 $4'$ (各 $1\text{mm}$ )を残す様に、ポリエステル主体の絶縁性ペーストを前記と同様に印刷し、加熱処理して絶縁層5を形成する。次に、露出した $2'$ 、

へ試料液としてグルコース標準液を滴下し、滴下2分後に参照極を基準にして $700\text{mV}$ の Puls 電圧を印加することにより、測定極をアノード方向へ分極した。

この場合、添加されたグルコースは多孔体7に担持されたグルコースオキシダーゼの作用でフェリシアン化カリウムと反応してフェロシアン化カリウムを生成する。そこで、上記のアノード方向への Puls 電圧の印加により、生成したフェロシアン化カリウム濃度に比例した酸化電流が得られ、この電流値は基質であるグルコース濃度に対応する。

第3図は、上記構成のセンサの応答特性の一例として、電圧印加10秒後の電流値と、グルコース濃度との関係を示すものであり、極めて良好な直線性を示した。

上記に示したグルコースセンサの作製方法において、カーボン電極の研摩後の熱処理工程の温度を $100^{\circ}\text{C}$ 、 $70^{\circ}\text{C}$ 、 $60^{\circ}\text{C}$ 、 $50^{\circ}\text{C}$ 及び熱処理なしとした以外は、前記と全く同様に構成したセ

ンサを各々複数個作製し、30℃にて保存し、前記グルコース標準液に対する応答変化を検討した。各々の熱処理温度の電極を用いたセンサについて、初度の応答電流を100%としたときの変化を第4図に示す。図より明らかなごとく、処理温度60℃以上では保存に伴う応答変化は少ないが、50℃あるいは熱処理なしの場合には変動が大きい。これは、研磨されたカーボン印刷電極の露出表面部分の活性が安定していないことによるものと推定される。なお、電極面を研磨しない場合には、研磨した場合の約1/2の応答電流しか得られなかったが、この様な研磨の有無による応答電流の違いは、ペースト中にバインダーとして含まれる樹脂成分などがカーボン表面を部分的に被覆していることによるものと考えられる。研磨により、カーボン電極表面の樹脂バインダーの削除ならびに電極表面の均一な平滑化が達成できるとともに、これを60℃以上の温度、好ましくは60~170℃で1~8時間熱処理することにより、電極露出部の活性度を一定化できる。

本発明者らの検討によれば、70~150℃の温度で4時間熱処理することで、保存後における応答電流の変化が極めて少ない、好結果が得られた。

熱処理に際し、50℃以下では前述した通り好ましい結果は得られなく、又逆に170℃よりも高温での熱処理は、センサの基板であるポリエチレンテレフタレート熱劣化やカーボンペースト中の樹脂バインダーの変質を招くので避けるべきである。

本発明のバイオセンサの製造法における一体化の方法としては、実施例に示した枠体、カバーなどの形や組み合わせに限定されるものではない。また、用いる多孔体としては、ナイロン不織以外に、セルローズ、レーヨン、セラミック、ポリカーボネート等からなる多孔体を単独、あるいは組み合わせで用いることができる。さらに酸化還元酵素と電子受容体の組み合わせも前記実施例に限定されることなく、本発明の主旨に合致するものであれば用いることができる。一方、上記実施

例においては、電極系として3電極方式の場合について述べたが、対極と測定極からなる2電極方式でも測定は可能である。

#### 発明の効果

以上のように本発明のバイオセンサの製造法は、カーボンを主体とする電極系に研磨、熱処理を施すことにより、保存性に優れたバイオセンサを提供することができる。

#### 4. 図面の簡単な説明

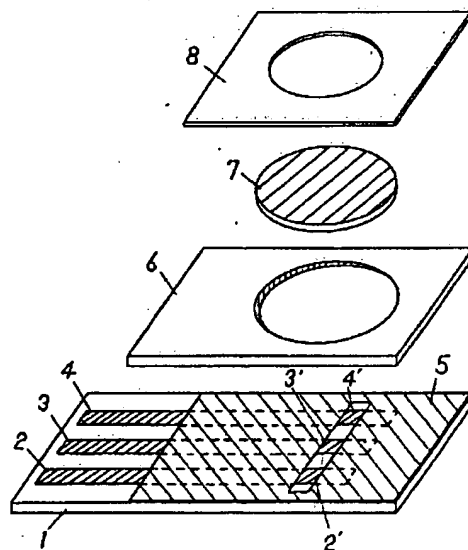
第1図は本発明の一実施例であるバイオセンサの分解斜視図、第2図はその縦断面図、第3図はバイオセンサの応答特性図、第4図はバイオセンサの保存特性図、第5図は従来のバイオセンサの縦断面図である。

1……絶縁性基板、2, 2'……対極、3, 3'……測定極、4, 4'……参照極、7……多孔体。

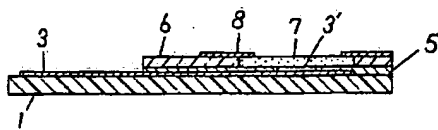
代理人の氏名 弁理士 中 尾 敏 男 ほか1名

- 1 — 絶縁性基板
- 2, 2' — 対極
- 3, 3' — 測定極
- 4, 4' — 参照極
- 5 — 絶縁層
- 6 — 保持枠体
- 7 — 多孔体
- 8 — カバー

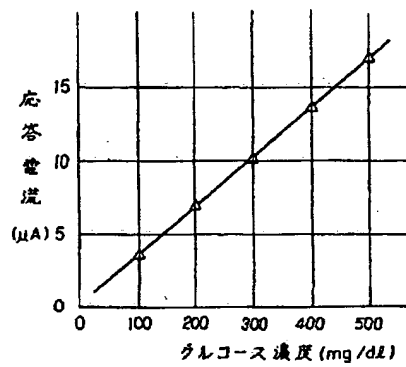
第1図



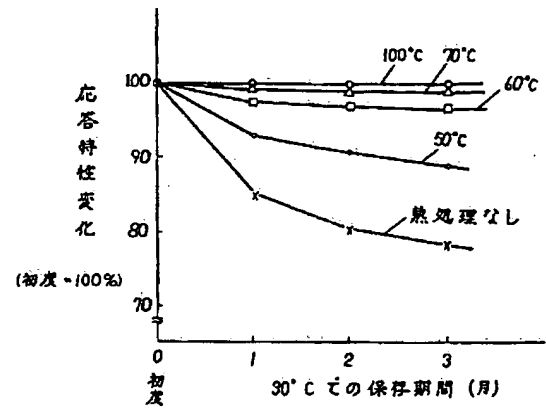
第 2 図



第 3 図



第 4 図



第 5 図

